

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平1-259257

⑬ Int. Cl.

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成1年(1989)10月16日

G 01 N 33/543
35/02

Y-7906-2G
Z-6923-2G

審査請求 未請求 請求項の数 4 (全 21 頁)

⑮ 発明の名称 免疫凝集測定装置

⑯ 特 願 昭63-86916

⑰ 出 願 昭63(1988)4月8日

⑱ 発 明 者 岡 田 悟 兵庫県神戸市兵庫区大開通6丁目3番17号 東亜医用電子株式会社内
⑲ 発 明 者 水 野 義 照 兵庫県神戸市兵庫区大開通6丁目3番17号 東亜医用電子株式会社内
⑲ 発 明 者 泉 幸 慶 兵庫県神戸市兵庫区大開通6丁目3番17号 東亜医用電子株式会社内
⑲ 発 明 者 大 谷 俊 宏 兵庫県神戸市兵庫区大開通6丁目3番17号 東亜医用電子株式会社内
⑳ 出 願 人 東亜医用電子株式会社 兵庫県神戸市兵庫区大開通6丁目3番17号
㉑ 代 理 人 弁理士 湯浅 恭三 外4名

明 細 書

1.〔発明の名称〕

免疫凝集測定装置

2.〔特許請求の範囲〕

① 測定すべき抗原あるいは抗体を含む検体と、その抗原あるいは抗体と特異的に反応する抗体あるいは抗原を結合させた不溶性担体を含む試薬とを混合させることにより、抗原抗体反応が生じ、不溶性担体が検体中の抗原あるいは抗体を媒介として相互に凝集し、その凝集塊を検出部に導入することにより粒子の電気的差異または光学的差異に基づく信号が発せられ、その信号を粒子計数手段により計測して不溶性担体の凝集度を数値化し変換することにより、検体に含まれている抗原あるいは抗体の量を測定する免疫凝集測定装置において、

複数の緩衝液容器が恒温状態を保ちながら装荷された正逆回転可能な緩衝液テーブルと、

複数の試薬容器が恒温状態を保ちながら装荷された正逆回転可能な試薬テーブルと、

複数の反応容器が恒温状態を保ちながら保持された正逆回転および振盪運動可能な反応テーブルと、

検体容器が装荷されたラックが移動する移送部と、

移送部に接続されラックを移送部に供給する発送部と、

移送部に接続されラックを移送部から回収する回収部と、

緩衝液容器から緩衝液を分取し反応容器に分注する装置と、

検体容器から検体を分取し反応容器に分注する装置と、

試薬容器から試薬を分取し反応容器に分注する装置と、

緩衝液、検体、試薬が混合され不溶性担体の凝集反応が生じた反応液を反応容器から分取し検出部に通ずる試料チャンバに分注する装置と、

反応容器に残留した反応液を排出し洗浄する装置と、

B2

を包含することを特徴とした免疫凝集測定装置。

② 反応テーブルに直交して取り付けられた軸100と、

軸100が回転自在に支持された保持具と、

軸100と連結された駆動源と、

保持具に回転自在に支持された軸100と、

軸100に偏心して接続された軸102と、

軸102が回転自在に支持された基板と、

軸102と連結された駆動源102と、

反応容器を囲むように溝が設けられ温度制御可能な素子が密接して取り付けられた恒温度と、

恒温部の周囲を覆うように設けられた断熱材とから構成されることにより、反応テーブルが反応容器を恒温状態に保ち正逆回転および振盪運動可能である請求項1記載の免疫凝集測定装置。

③ 分取・分注装置が、

保持具(118)、(122)に回転および揺動自在に支持された軸(116)と、

軸(116)に取り付けられたアームと、

アームに一端が回転可能に支持された保持具

(104)と、

保持具(104)の回転移動に負荷を与えるスプリングと、

保持具(104)に取り付けられたビベットと、

ビベットに接続されたシリンジと、

スプリングの力に逆って保持具(104)が回転移動させられた事を検知するセンサと、

軸(116)に対して回転可能に取り付けられた回転部材(124)、(126)と、

回転部材(124)、(126)を連結させる連結具と、

回転部材と連結する駆動源と、

軸(116)に取り付けられ連結具の動きを規制するガイド(130)と、

軸(116)の軸方向には軸(116)に固定された軸の回りには回転可能に取り付けられた連動具と、

連動具を軸(116)の軸方向に往復直線運動させる駆動源と、

からなり、

ビベットにより分取または分注が行われる容器の下に接地面を設け、ビベットが容器内の液面に

(3)

接するときと接しないときのビベット、接地面間のインピーダンス変化を検知することにより、液面の検知を行う請求項1または2記載の免疫凝集測定装置。

④ 洗浄装置が、

軸方向に往復直線運動が可能な軸と、

軸の駆動源と、

その軸に取り付けられたアームと、

アームに取り付けられた保持具と、

保持具を挿通し移動可能に支持され先端に切り欠きが設けられたビベットと、

保持具内部においてビベットに設けられた凸部と保持具との間にはさまれるように設けられたスプリングと、

ビベット外周との間に隙間が形成されてビベットに取り付けられ、その隙間と通ずる供給口が設けられた洗浄部と、

からなる請求項1ないし3のいずれか一に記載の免疫凝集測定装置。

3. [発明の詳細な説明]

[産業上の利用分野]

本発明は、抗原抗体反応により生じる不溶性凝

体の凝集塊を個々に粒子計数することにより、抗原または抗体の定量を行う免疫凝集測定装置に関する。

[従来の技術]

癌の診断や経過観察のため、 α -フェトプロテイン(AFP)、癌胎児性抗原(CEA)等の腫瘍マーカーの測定は今日重要となって来ている。

抗原抗体反応を利用した免疫測定装置として、ラジオイムノアッセイ(RIA)法やエンザイムイムノアッセイ(EIA)法を用いたものがある。両者ともよく知られているように、高感度に測定できるものの、RIA法では放射性物質を使用するため廃棄物処理がわずらわしい、EIA法では測定に長時間を要する、という問題があった。

そこで上記の問題を解決するため、抗原抗体反応を利用したラテックス凝集反応に伴う凝集度を粒子計数法により測定し、抗原または抗体の定量をする装置、例えば免疫凝集測定装置PAMIA-10(商品名)が考え出された。

この装置では、測定すべき抗原あるいは抗体が

(5)

(6)

含まれている検体と、その検体中の抗原あるいは抗体と特異的に反応する抗体あるいは抗原が結合させられたラテックス粒子を含む試薬とを混合させることにより、抗原抗体反応が生じラテックス粒子が検体中の抗原あるいは抗体を媒介として相互に凝集しラテックス凝集塊が形成される。このラテックス凝集塊をフローセルに導入し光を照射して、凝集塊を含む粒子個々の散乱光を計測し弁別することにより得られる未凝集粒子の数と凝集粒子の数とから凝集度を算出し、さらに検体中の抗原あるいは抗体の濃度に換算される。このようにして検体中の目的とする抗原あるいは抗体の定量が行われる。

〔発明が解決しようとする課題〕

従来の免疫凝集測定装置には次のような課題があった。

(a) 今日の、検査すべき腫瘍マーカーの激増により、検体試料、試薬等の使用量が増大し、その削減が切望されている。

(b) 単位時間当たりの処理能力の倍増も切望され

(7)

は抗体の量を測定する免疫凝集測定装置において、

複数の緩衝液容器52が恒温状態を保ちながら装着された正逆回転可能な緩衝液テーブル50と、

複数の試薬容器92が恒温状態を保ちながら装着された正逆回転可能な試薬テーブル90と、

複数の反応容器12が恒温状態を保ちながら保持された正逆回転可能であり且つ振盪運動可能な反応テーブル10と、

検体容器202が装着されたラック200が移動する移送部210と、移送部210に接続されラック200を移送部210に供給する発送部204と、移送部210に接続されラック200を移送部210から回収する回収部234と、

緩衝液テーブル50上の緩衝液容器52から緩衝液を分取し上記反応テーブル10上の反応容器12に分注する第1の分取・分注装置100と、検体容器202から検体を分取し上記反応テーブル10上の反応容器12に分注する第2の分取・分注装置140と、試薬テーブル90上の試薬容器92から試薬を分取し上記反応テーブル10上

(9)

ている。

(c) 動作部分が狭い空間で効率よく正確かつ安全に作動すること、すなわち操作性の向上も望まれていた。

(d) 凝集反応の安定促進のための攪拌は、回転子を反応容器内で回転させて行っていたので、長期的に回転子が摩耗してそのバランスが崩れ回転子の攪拌能力が低下する恐れがあった。

〔課題を解決するための手段〕

前述の如き諸課題を解決するため、本発明は、測定すべき抗原あるいは抗体を含む検体と、その抗原あるいは抗体と特異的に反応する抗体あるいは抗原を結合させた不溶性担体を含む試薬とを混合させることにより、抗原抗体反応が生じ不溶性担体が検体中の抗原あるいは抗体を媒介として相互に凝集し、その凝集塊を検出部に導入することにより粒子の電氣的差異または光学的差異に基づく信号が発せられ、その信号を粒子計数手段により計測して不溶性担体の凝集度を数値化し変換することにより、検体に含まれている抗原あるい

(8)

の反応容器12に分注する第3の分取・分注装置142と、緩衝液、検体、試薬が混合され不溶性担体の凝集反応が生じた反応液を上記反応テーブル10上の反応容器12から分取し検出部164に送ずる試料チャンバ162に分注する第4の分取・分注装置146と、反応容器12に残留した反応液を排出し洗浄する洗浄装置150と、を包含する免疫凝集測定装置を提供することを特色とするものである。

〔作用〕

上記免疫凝集測定装置は、ラック移動装置により所定の位置に移送された検体容器に対して分取・分注装置100により所定の緩衝液容器52から緩衝液が分取され、反応容器12に分注され、分取・分注装置140により検体容器202から検体が分取されて上記反応容器12に分注される。さらに、分取・分注装置142により所定の試薬容器92から試薬が分取されて上記反応容器12に分注される。緩衝液、検体、試薬が反応容器12内に順次注入され混合される際、反応テーブルは全

体として振盪を続ける。この時、反応容器12は恒温状態に保たれ均一に振盪搅拌されるので緩衝液、検体、試薬の混合液すなわち反応液は、反応容器12内で安定して抗原抗体反応が促進され不溶性担体の凝集塊が生成される。

所定時間後、分取・分注手段14,6により反応容器12から反応液が分取され、試料チャンバ162に分注される。

試料チャンバ162に分注された反応液は、検出部164に移送され不溶性担体が検出部をシースフローとして通過する際に電気的または光学的特性上の差異に基づいて信号が発生される。この信号を計測することにより得られる未凝集担体の個数、凝集担体の個数等のデータを用いて不溶性担体の凝集度が数値化される。この凝集度の値を変換することにより、検体中に含まれている測定すべき抗原あるいは抗体の定量を行うことができる。

〔実施例〕

図面を参照しながら本発明の免疫凝集測定装置

の一実施例を説明する。

第1図は本発明による免疫凝集測定装置の一実施例の平面図、第2図は第1図におけるA-A線断面図、第2a図は第2図におけるB-B線より見た拡大断面上面図、第3図は分取・分注装置の一実施例の側面図、第4図は洗浄装置の一実施例の要部の側面図、第4a図は第4図の円Aの部分拡大図である。

第1図、第2図によれば、10は軸14とともに正逆回転可能な円板状の反応テーブルである。反応テーブル10は上テーブル11と下テーブル13からなり、上テーブル11と下テーブル13により反応容器12の突縁12aがはさまれた状態で、4.8個の反応容器12が反応テーブル10に等角度間隔に保持されて配置されている。

50は軸54とともに正逆回転可能な円板状の緩衝液テーブルである。このテーブル50は上テーブル51と下テーブル53とからなり、等角度間隔に6個の緩衝液容器52が着脱可能に装着されている。緩衝液は検体中に含まれる抗原あるいは

01

は抗体を特異的に測定する際に、測定誤差の原因となる非特異反応を抑制し特異反応を引き出すためのものである。

90は緩衝液テーブル50と同様であるが稍小形化された、正逆回転可能な円板状の試薬テーブルであり、等角度間隔に6個の試薬容器92が着脱可能に装着されている。試薬には検体中に含まれる測定すべき抗原あるいは抗体と特異的に反応する抗体あるいは抗原を周囲に結合させた不溶性担体、例えば直径約0.75 μ mのラテックス粒子が含有されている。

反応容器12は反応テーブル10の下部に設けられた恒温部20により例えば43~47℃に保温されている。熱伝導率の高い例えばアルミニウム製である恒温部20には反応容器12を囲うように溝22が設けられている。恒温部20には温度検知用のセンサ28が埋め込まれ、恒温部20の外周には温度制御可能なヒータ26が密着して取り付けられ、さらに恒温部20の周囲は熱伝導率の低い、例えばポリウレタン樹脂製の断熱材

02

24で覆われている。また、反応テーブル10の上テーブル、下テーブル13も熱伝導率の低い、例えば合成樹脂製であり、このため恒温部20は周囲温度にかかわらず一定温度に保温され、反応容器12も一定温度に保温される。

反応テーブル10の回転軸14はベアリング15a, 15bを介して保持具30に回転自在に支持され、ベルト17により保持具30に取り付けられたモータ(図示せず)と連結されている。反応テーブル10の中心部は、固定具18により軸14に取り付けられ支持具16により保持具30に支持されている。反応テーブル10は保持具30に対して軸14を中心にして正逆回転可能である。さらに、保持具30にはベアリング35a, 35bを介して軸34が回転自在に支持され、軸34はベアリング33a, 33bを介して基板38に回転自在に支持された軸32に対して偏心して接続されている。軸32は、ベルト41a, 41bによりモータ42と連結されている。よってモータ42が回転すれば軸32, 34も回転し保持具

03

04

30は蓋板38に対して振盪運動を行い反応テーブル10も振盪される。

なお、軸34には、反応テーブル10、保持具30の振盪時に発生する、重心の移動による振動をキャンセルするため、バランス36が取り付けられている。

緩衝液容器52は緩衝液テーブル50の下部に設けられた恒温部60により、例えば10〜15℃に保冷される。緩衝液テーブル50に近接配置されている試薬テーブル90も同様の構成であり、このため、試薬容器92も同様に保冷される。

緩衝液テーブル50の回転軸54は、ベアリング55a, 55bを介して基板70に回転自在に支持され、ベルト73によりモータ74と連結されている。緩衝液容器の恒温化のために、ベルトチェ効果を利用した温度制御可能な冷却素子66をはじめ熱伝導率の良い例えばアルミニウム製の恒温部60と放熱器68がそれぞれ冷却素子66と熱的に密接して配置され、これらは全体として支持具72により基板70に支持されている。恒温部

60には温度検知用のセンサ(図示せず)が設けられている。軸54に取り付けられた支持具56は、恒温部60と良好な伝熱性を保ちながら回転することができ、さらに支持具56と下テーブル53が熱的に密接するように支持具56の上に支持具56と共に回転移動させられる緩衝液テーブル50が乗せられている。

支持具56、下テーブル53は共に熱伝導率の良い例えばアルミニウム製であり、上テーブル51および緩衝液テーブル50の周囲に設けられた筒状のケース62は熱伝導率の低い合成樹脂製であり、さらにケース62および恒温部60の外周は熱伝導率の低い例えばポリウレタン樹脂製の断熱材64で覆われている。かくして緩衝液テーブル50、緩衝液容器52は良好に保冷される。上テーブル51には取手58が取り付けられ、容易に緩衝液テーブル50を取りはずし持ち運びでき、緩衝液容器の交換時等に便利ならしめてある。

次に、それぞれがほぼ同様の構成を有する分取・分注装置100, 140, 142, 144, 146について

09

説明する。第3図は分取・分注装置100の一実施例の側面図である。ガイド119, 120を介して保持具118, 122に回転および摺動自在に支持された軸116にアーム112が直交して取り付けられ、アーム112の先端にビベット102が通常状態では軸116と平行になるように保持具104に取り付けられ、この保持具104はスプリング108により負荷が与えられてアーム112に軸106を介して回転可能に支持されている。ビベット102先端部は分取・分注の精度を上げるために外径および内径を細くすることが好ましい。ビベット102には、液の吸引、吐出を行うためのシリンジ(図示せず)が接続される。

アーム112には保持具104を検知するためのセンサ114が取り付けられている。通常、保持具104はスプリング108に押されてセンサ114の近傍に位置している。しかし、保持具104は、ビベット102の下降時に異物が当たると、スプリング108の力に逆って軸106を中心に回転させられセンサ114から離れるので、

08

センサ114によりその異常を検知することができる。この時ただちに軸116が上昇させられビベット102も上昇させられるので、ビベット102の破損を防ぐことができる。また、ビベット102には導体113が接続されており、後述の検知回路310によりビベット102が容器内の液面に接触したか否かを検知することができる。かくして、液面の高さが異っていても確実に液面を検知することができるので、分取あるいは分注を確実にならしめるに有益である。

第3図に明らかなように、ベアリング125を介してガイド119に回転可能に取り付けられた回転部材124と、ベアリング127a, 127bを介してガイド120に回転可能に取り付けられた回転部材126とは、連結具128により互いに連結されている。軸116には連結具128のガイド130が固定して取り付けられている。回転部材126はベルト129によりモータ138と連結されている。従って、モータ138が回転すれば回転部材126、連結具128が回転し、運

結具128とともにガイド130も回転させられる。ガイド130は軸116に固定して取り付けられているので軸116も回転させられ、これに応じてアーム112、ビベット102が回転させられる。

軸116には軸方向の動きが規制され軸の回りには回転可能に取り付けられたベアリング133、133'を介して連動部材132が取り付けられ、これにベルト固定部134で固定されたベルト134'によりモータ136と連結されている。よってモータ136が回転すれば連動部材132は上下に移動でき、この連動部材132は軸方向には軸116に固定して取り付けられているので、軸116も軸方向に上下に移動し、この結果アーム112、ビベット102も上下に移動可能となる。かくしてアーム112、ビベット102は軸116の軸方向に往復直線運動が可能で、かつ軸116を中心とした正逆回転運動が可能の構造となっていることがわかる。

第5図は前述の液面検知回路の概略図である。

09

ある。

次に、洗浄装置150について説明する。第4図は洗浄装置150の一実施例の要部の側面図である。軸260は駆動源(図示せず)により往復直線運動可能な軸であり、軸260にアーム262が直交して取り付けられている。アーム262の先端には保持具276、278が取り付けられ、軸260と平行になるようにビベットが挿通されている。保持具276の内側には保持具278とビベット264の凸部268とはさまれたスプリング280が設けられている。よって軸260の下降時にビベット264に物が当たると凸部268がスプリング280の弾力に逆ってスプリング280を圧縮するので無理なく、ビベット264は当たった物に密接した状態で停止することができる。軸260が上昇しビベットに加えられる力が解除されるとビベット264はスプリング280の作用により下降状態に戻る。ビベット264の上端は廃液回収部に通じる排出口269となっているビベット264の下端は吸入口265

ビベット102に接続された導体113には例えば10KΩ程度の抵抗Rが接続された例えば2MHz程度の高周波発振器300と帯域通過フィルタ302が接続されており、フィルタ302の出力側に検波器304、微分器306、比較器308が直列に接続されている。緩衝液容器52は接地された金属面上に設置されており、ビベット102先端が緩衝液容器52内の液面に接するかどうかによりビベット102-接地面間の電気容量Cが変化する。よって、抵抗Rと容量Cにより形成されたRC形積分回路の出力すなわちフィルタ302の入力側には容量Cに応じた振幅の高周波信号が得られる。この高周波信号を所定の帯域通過フィルタ302に通すことにより、振幅の容量Cへの依存性を顕著にすることができる。この高周波信号は検波器304により検波することにより、直流信号に変換され、さらにこの直流信号は微分器306により直流信号のレベル変化がとらえられ、比較器308により所定値と比較されてビベット102が液面に接触したか否かが検知されるので

00

であり小さな切り欠き267が設けられていて、吸入口265が反応容器12の底に当接した状態でも切り欠き267から液を吸引することができる。ビベット264の外周に形成される隙間272と通じるように供給口であるニッブル274が設けられた洗浄部270がビベット264のネジ部266に取り付けられている。ニッブル274から洗浄液が供給されると、隙間272を通過してビベット264の外周から洗浄液が吐出される。洗浄装置150には同様の構成でアーム262に複数本のビベットを取り付け、隣接する複数の反応容器12を同時に洗浄することができる。

次に検体容器202の動きについて第1図を参照しながら説明する。検体容器202はラック200に5個ずつ装着される。ラック200は個々に持ち運びできるので検体容器の装着の際便利である。用いられる検体試料は例えばヒトの血清である。

ラック200は発送部204に横向きに縦一列にセットされる。発送部204にある全てのラッ

ク 200 はラック移動装置 206 によりいっせいに第 1 図において紙面上方に向って移動される。先頭のラックがセンサ 208 に近接することにより検知されるとラック移動装置 206 は停止する。

先頭のラックは第 1 図において左方に移動しているベルト 213 に乗り移送部 210 を左方に移動される。ラック移動装置 214 に取り付けられたストップ 218 に移動してきたラック 200 が接触すると、ラックを停止させるとともに、先にゴム材 221 が取り付けられたアーム 220 が回転し後ろからラックを押圧する。ラックがセンサ 224a、224b に接近することによりラックの存在が検知される。ストップ 218 とアーム 220 の間に保持されたラックはガイド 216 に沿ってラック移動装置 214 により第 1 図において右から左方向に検体容器 1 個分ずつこま送りされ、センサ 222a、222b により検体容器の有無が確認されながら順次、分取・分注手段 140 により一定量の検体が分取される。ラックには 5 個の検体容器装着部分にそれぞれ 1 個ずつ計 5 個の貫通孔

が設けられ、検体容器がセンサ 222a、224 を通過することにより検体容器の有無が確認される。

5 検体分の分取が終了すると、ストップ 218、アーム 220 とともに初期位置に戻りラックに対する規制がとかれラックは移送部 210 を左方向に移送される。ラック 200 がセンサ 232 に近接することにより検知されると、ラック移動装置 230 により回収部 234 に押し入れられる。その後、ラック移動装置 230 は元の位置に戻る。

ラック回収部 234 に収容されるラック 200 がセンサ 236a、236b を遮断することにより検知されると、さらにラック 200 を回収部 234 に収容させることはできない。

次に、第 1 図および第 6 図～第 8 図を参照しながら免疫凝集測定装置の動作フローについて説明する。第 6 図～第 8 図はそれぞれ分取・分注装置 100、140、142、144、146、検出部 164、洗浄装置 150 周辺の流体回路の概略図である。

分取・分注装置 100 が動作してビベット 102 が緩衝液テーブル 50 の所定位置の緩衝液容器内

23

の緩衝液液面に接触すると液面検知機能によりビベット 102 の下降が止まり、ビベット 102 に接続されたシリンジ C₁ のピストンが下降することにより一定量例えば 80 μ l の緩衝液がビベット 102 から吸引される。この時弁 V₁ は閉じた状態にある。次に、分取・分注装置 100 が上昇、回転、下降し、ビベット 102 が反応テーブルの所定位置の反応容器内に配置されると、シリンジ C₁ のピストンが上昇し先程吸引した緩衝液が分注される。分注終了時にビベット先端と液面が接触するようにすれば先端に零が付着したまにならないので分注精度が向上する。その後、分取・分注装置 100 は上昇、回転、下降し、ビベット 102 が洗浄槽 101 内に配置される。弁 V₁ が開けられて洗浄液供給源から洗浄液が供給されビベット 102 先端から排出されるので、ビベット 102 内壁が洗浄される。また、ビベット 102 外壁は、弁 V₂ を開放することにより洗浄槽 101 中央部から洗浄液がビベット 102 に当るように噴出されるので洗い流されて洗浄される。この後、

24

弁 V₁ は閉じられる。ビベット 102 外壁および先端に付着した洗浄液は弁 V₂ が開けられることにより洗浄槽上部から空気がビベット 102 に当るように噴出されるので吹き飛ばされ除去される。洗浄中は弁 V₂ が開けられ、洗浄液、空気は廃液回収部に回収される。シリンジ C₁ のピストンをさらに微量量降下させておけばピストン 102 先端部に空気層を形成することができるので、緩衝液は洗浄液とは遮断された状態で分取・分注が行える。

さて、分取・分注装置 100 により所定位置の反応容器 12 に緩衝液が分注されると、分取・分注装置 100 の上記洗浄工程を待つことなく反応テーブル 10 が反応容器 9 個分反時計方向に回転し、前もって分取・分注装置 140 によりラックの所定位置の検体容器 202 から一定量例えば 10 μ l 分取された検体が、先程分注された緩衝液の入った反応容器 12 に分注され、両者は混合される。分取・分注装置 140 の分取・分注動作はシリンジ C₂ を用いて分取・分注装置 100 と

同様に洗浄は洗浄槽 141 を使って同様になされる。同様に分取・分注装置 140 の洗浄工程を待つことなく反応テーブル 10 が反応容器 10 個分時計方向に回転する。このように反応テーブル 10 が正回転をくり返しなが待ち時間なく効率的に次々と新しい反応容器に緩衝液と検体が混合され、反応容器 12 が 1 個ずつ時計方向に送られていく。

次に、分取・分注装置 142 により試薬テーブル 90 の所定位置の試薬容器 92 から一定量、例えば 10 μ l の試薬が、緩衝液、検体の混合された所定位置の反応容器 12 に分注されることにより、緩衝液、検体、試薬の 3 者が混合される。分取・分注装置 142 の動作はシリンジ C₁ を用いて分取・分注装置 100 と同様に洗浄は洗浄槽 143 を使って同様になされる。なお、検体の分注時、試薬の分注時に、分取・分注装置 140、142 の各ピペットを反応容器 12 内の各液面に接したまたは浸した状態で検体あるいは試薬を分注し同時に反応テーブル 10 を振盪搅拌さ

せれば、分注精度良くある程度の混合効果が生じる。さらに、反応容器 12 は前述のように 4.3 ~ 4.7 °C に保温されている。反応テーブル 10 は正逆回転時以外、一定回転で振盪搅拌されるので反応容器 12 内の緩衝液、検体、試薬の混合液からなる反応液はたとえ 100 μ l の微量であっても時間の経過とともに反応容器内で均一にかつ反応容器ごとにはばらつきなく搅拌され、抗原抗体反応によるラテックス凝集反応が安定して促進されることになる。さらに反応容器中に使用しないため回転子の摩耗の恐れがないので、長期にわたりその安定した振盪搅拌作用が保証される。反応テーブル 10 の振盪搅拌の回転直径、回転数は大きければ大きい程搅拌力は強くなるが、強くなり過ぎると逆にラテックス凝集反応の進行を妨げる作用をおよぼすので、例えば反応容器 12 の内径が 8 mm、反応液液量が 100 μ l であれば、振盪搅拌の回転直径は 2 ~ 5 mm、回転数は 400 ~ 1000 rpm が適当であり、好適には通常それぞれ 3 mm、600 rpm が良い。

071

分取・分注装置 144、146 はそれぞれある反応液についての第 1 回目の測定 (T₁ 測定) 用、第 2 回目の測定 (T₂ 測定) 用の分取・分注装置であり、それぞれのピペットはそれぞれ洗浄槽 145、147 で洗浄される。分取・分注装置 144、146 のピペットには分取・分注を行うピペット選択用の弁 V₁、反応液の分取・分注用のシリンジ C₁、希釈液流路切換え用の弁 V₂、逆流止め弁 V₃、希釈液分注用のシリンジ C₂ が接続されている。弁 V₂ を希釈液供給源側に切り換え、シリンジ C₂ のピストンを下降させると、シリンジ C₂ 内に一定量の希釈液が蓄えられ、また弁 V₃ をピペット側に切り換えシリンジ C₁ 内のピストンを上昇させると、一定量の希釈液がいずれかのピペットから分注される。弁 V₁ をいずれかのピペット側に切り換えてシリンジ C₁ のピストンを下降または上昇させると、選択されたピペットから反応液の分取または分注ができる。反応液の分注時に同時に希釈液も分注させれば、反応液の希釈が行われる。弁 V₁ は弁 V₂ の切り換え時に生じ

072

る圧力ショックをやわらげる働きをする。

分取・分注装置 144 が切換えられた状態で、この分取・分注装置 144 により反応テーブル 10 の所定位置の反応容器 12 から反応液が一定量例えば 30 μ l 分取され試薬の混合から一定時間例えば 24 秒後試料チャンバ 160 に 1 ml の希釈液とともに分注される。なお、その前にシリンジ C₂ により 0.5 ml の希釈液のみが試料チャンバ 160 に分注されているので、30 μ l の反応液は 0.5 ml と 1 ml の希釈液にはさまれるようにして効果的に試料チャンバ 160 内で 51 倍に希釈混合される。これは検体から見れば 510 倍の希釈となる。この希釈試料は T₁ 測定用である。

残りの 70 μ l の反応液は、弁 V₂ が切り換えられ分取・分注装置 146 により試料の混合から一定時間例えば 14 分 36 秒後に同様にして、試料チャンバ 162 内で T₂ 測定用の 51 倍に希釈された反応液の希釈試料が作製される。なお、希釈液の代りにシース液を使って希釈を行うことも可能である。

第7図は、ラテックス凝集塊を検出するための検出部であるフローセル164周辺の流体回路の概略図である。分取・分注装置144により試料チャンバ160内に作製された T_1 測定用の $1530\mu\text{m}$ の希釈試料は、弁 V_{10} 、 V_{11} が開放されることにより流路に充填され、その後弁 V_{10} 、 V_{11} は閉じられる。次に弁 V_{12} が開けられる。シリンジ C_1 のピストンが一定速度で上昇することにより希釈済み試料がノズル166から一定流速で押し出され、この時弁 V_{10} が開けられるとシース液がフローセル上側面部の供給口167から一定圧で供給される。かくして希釈試料は、フローセル164中央をシース液によってさや状に囲まれた細流となって流れる。この細流にスポット状の光が照射され粒子個々の散乱光が光学的に検出される。

第9図は光学的検出装置の平面図である。発光素子168から発せられる、例えば波長 780nm のレーザ光をレンズ172、174、176により集光し、フローセル164中央部分にスポット状に

照射させる。遮光板180により透過光が遮断され、前方散乱光のみがレンズ178により集光され受光素子170に照射され光電変換される。透光は遮光板182により遮断され、前方散乱光の検出感度が向上される。

フローセル164において粒子の検出中はシリンジ C_1 は希釈試料をノズル166から押し出しこの間弁 V_{10} 、 V_{11} は開いている。弁 V_{12} は閉じているので、時間を有効に使い試料チャンバ160の洗浄を行う。弁 V_{10} を開けることにより試料チャンバ160内に残留している希釈試料は排出される。弁 V_{12} を開けることにより試料チャンバ160上部から洗浄液を供給し内壁を洗浄し排出する。再底洗浄液を供給し一部を弁 V_{10} を通じて排出し洗浄する。シリンジ C_1 が所定量の希釈試料を押し出してしまえばシリンジ C_1 は停止し、供給口167からシース液のみ供給され弁 V_{12} を通り排出されるのでフローセル164内部が洗浄され、弁 V_{10} 、 V_{11} が閉じられる。弁 V_{10} 、 V_{11} が開けられることにより試料チャンバ160の洗浄

33

液が排出され先程測定用の試料を充填した流路を洗い流して洗浄する。次に弁 V_{12} を閉じ弁 V_{10} を開けて試料チャンバ160内の洗浄液を完全に排出するとともに、弁 V_{12} を開けさらに洗浄する。次に弁 V_{12} 、 V_{11} が開けられてシース液が供給口167に供給されノズル166を逆流して排出される。こうしてノズル166の洗浄が行われる。なお、第7図において洗浄液の代りにシース液を用いて洗浄を行うことも可能である。

T_1 測定用の希釈試料は分取・分注装置144により同様に試料チャンバ162内に作製され、弁 V_{10} 、 V_{11} の代りにそれぞれ弁 V_{10} 、 V_{11} が機能して同様に測定、洗浄が行われる。

第10図は測定回路の概略図である。184は受光素子170を含む、例えば実願昭62-197153号に記載された高感度応答可能な光電変換器であり、粒子の大きさに応じた大きさの電気信号が得られる。高感度の光電変換器を用いればフローセル164中に粒子を従来より遅く流すことができるのでより測定時間の短縮を図ることが

34

できる。この粒子信号は増幅器186にて増幅されA/D変換器188により個々の粒子信号の振幅値がA/D変換される。このA/D変換されたデータは記憶されて粒子計数の終了後、第11図に示す粒度分布図として表示される。解析手段190において、例えば、ノイズと未凝集ラテックス粒子 F_1 を弁別するレベル L_1 、未凝集ラテックス粒子 F_1 と2個凝集ラテックス粒子 F_2 を弁別するレベル L_2 を設定することにより、レベル L_1 以上の大きさの粒子の数(未凝集ラテックス粒子の数 M と凝集ラテックス粒子の数 P の和)、レベル L_2 以上の大きさの粒子の数(凝集ラテックス粒子の数 p)を算出し、凝集度 Y を $Y = P / (M + P)$ を用いて数値化することができる。凝集度 Y を数値化するためには、この式によらないで他の方法によって凝集度 Y を定義し、その定義に従って凝集度 Y を数値化することができ、これには例えば特開昭60-111963号公報や特開昭60-243565号公報に記載された方法がある。解析手段190により得られた凝集度

Yは、濃度変換手段192により濃度に変換され出力装置194に出力される。第12図は既知濃度のキャリブレーションを用いて濃度とその時の凝集度Yとの関係を表わした検査線図の一例である。この検査線図にT₁測定において得られた凝集度Yの値をあてはめることにより、凝集度から濃度を求めることができる。ただし、検体に含まれる所定の抗原の濃度が高過ぎる所謂過剰域(プロゾーン)においてはラテックス凝集反応が抑制される傾向がみられる。第13図はこのような抑制現象を示す濃度-凝集度曲線である。250、252は、それぞれT₁測定時、T₂測定時における濃度-凝集度曲線である。T₁測定時の濃度-凝集度曲線250は低濃度領域においては抗原濃度が高くなれば凝集度も高くなるが、プロゾーンにおいては抗原濃度が高くなればなる程凝集度が低くなる現象が見られる。従って単に凝集度の値から濃度を一意的に求めることはできない。そこで、T₁測定において得られた凝集度がプロゾーンにおいて得られた凝集度ではないことを検体ごとに

確認しておく必要がある。このため、例えば、T₂測定以前の適当な時期にT₁測定を行い、この時得られた凝集度の値が抗原の濃度が高くなると凝集度が高くなる場合に注目するのである。すなわち、T₁測定の凝集度(曲線252)の値をプロゾーンの下限濃度に対応するT₁測定の凝集度pを判定値として比較しpを越えた場合にはプロゾーン領域であると判定することができる。

以上のように、分取・分注装置144により調製された試料は、第1回目の測定(T₁測定)に用い、分取・分注装置146により調製された試料は第2回目の測定(T₂測定)に用いることとして、前述したプロゾーンの内外の判定を行うのである。

測定が終了し不用な反応液が残留したままの反応容器12は5本のピペットを有する洗浄装置150に到達する。第8図は、洗浄装置150周辺の流体回路の概略図である。軸260が下降すれば5本のピペットは同時に下降し反応容器12の底に当接することができる。反応液はそれぞれ

33

のピペットにより切り欠き267が設けられた吸入口265から吸引され、排出口269から廢液回収部へ排出される。洗浄液がポンプ158から洗浄部270に供給されピペットの外周から吐出されることによりピペット外壁、反応容器内壁が洗浄される。この洗浄液は再びピペットにより吸引、排出される。これをくり返すことで1本のピペットにつき2回洗浄される。軸260、5本のピペット264が上昇し反応テーブル10が回転する。反応容器12が時計方向に1個分ずつ移動すると同時に同様の洗浄が行われる。こうして、1個の反応容器は4本のピペットにより連続して計8回の洗浄が行われ、反応液は完全除去される。5本目のピペットには洗浄部が設けられていないので洗浄液は供給されず吸引のみ行われ、これにより最終的に反応容器12内の液体は完全に除去される。本発明によれば、反応容器12内には従来のような回転子がないので、反応容器の洗浄は容易で確実となり、回転子に付着するかたちで洗浄液が残留しない。かくして、次の検体の測定に

34

悪影響を及ぼすことがない。また、前述した振盪攪拌による反応促進効果、反応状態の長期安定性により、抗原-抗体反応に関連した高精度の各種測定を可能にする。

さらに、1回の測定では検体試料中の一つの物質の分量を定量することができるだけであるが、緩衝液テーブル50、試薬テーブル90には複数の容器が装着できるので、測定すべき物質の種類に合わせて複数の緩衝液容器52、試薬92を装着し、測定項目を予め設定しておけば複数の物質または、多項目の測定結果を随時得ることができる。測定可能な抗原としては、 α -フェトプロテイン(AFP)、癌胎児性抗原(CEA)、フェリチン(FRN)、 β_2 -マクログロブリン(B2M)等がある。本発明装置により、それぞれ2~1000[n g/ml]、1~250[n g/ml]、2~1000[n g/ml]、255~10200[n g/ml]の濃度範囲において測定の直線性が保たれることが判明した。

また、従来の分取・分注装置は、緩衝液用と検体用、T₁測定用とT₂測定用、がそれぞれ兼用であったが、本発明においてはすべて独立させた

35

36

ので洗浄時等に発生する待ち時間をなくするために各動作を互いに時間的に重複しながら行わせることができ、このため単位時間当りの検体処理能力が格段に向上し、新規な免疫凝集測定装置として1時間当り150検体もの処理が可能となった。

〔発明の効果〕

以上説明したように、本発明の免疫凝集測定装置は次のような顕著な効果を有するものである。

(a) 抗原抗体反応の促進と安定化のための攪拌を振動攪拌により行うので、従来の半分の反応液量であっても安定して凝集反応が促進され、また反応容器ごとにはばらつきなく均一に攪拌振盪することができる。これに応じて、測定に必要な緩衝液、検体、試薬の分量をそれぞれ半分にすることができた。

(b) 反応液の攪拌に回転子を用いないので、回転子や容器面の摩耗の恐れがなくなり、反応容器内部が全体として均一かつ良好な攪拌が保証でき、正確な測定の実現と再現性の高い装置を実現した。また、反応容器も完全に洗浄でき、より高感度に

安定した測定結果が得られるようになった。

(c) 緩衝液、検体、試薬、反応液の分取・分注装置をそれぞれ独立させて専用に設けたので、各分取・分注動作を待ち時間少なく極めて効率的に実行することができ、これによって検体処理能力が格段に向上した。

(d) ラックは検体容器を装着してこのラックを発送部に並置するだけで順次測定されるので検体容器の操作がし易くなった。

4.〔図面の簡単な説明〕

添付図は本発明による免疫凝集測定装置の一実施例を示し、第1図はその概略の平面図、第2図は第1図におけるA-A線断面図、第2a図はB-B線より見た部分拡大上面図、第3図は第1図における分取・分注装置の一実施例の側面図、第4図は第4a図はピペットの先端部の拡大断面側面図、第4図は洗浄装置の要部の側面図、第5図は液面検知回路の基本構成図、第6図は分取・分注装置周辺の流体回路の概略図、第7図は検出部周辺の流体回路の概略図、第8図は洗浄装置周辺の流体回路の概略図、第9図は光学的検出部の平面図、第

40

10図は測定回路の基本構成図、第11図は凝集度に応じた粒度分布図、第12図は検査線図、第13図は抗原強度-凝集度曲線である。

図中符号：

10…反応テーブル
11、51…上テーブル
12…反応容器
13、53…下テーブル
14、32、34、54、106、116、260…軸
15a、15b、33a、33b、35a、35b、55a、55b、125、127a、127b、133a…ベアリング
16、40、56、72…支持具
17、41a、41b、73、129、134…ベルト
18…固定具
20、60…恒風部
22…扉
24、64…断熱材
26…ヒータ（温度制御素子）
28、114…センサ
30、104、118、122…保持具

40

36…バランサ
38、70…基板
42、74、136…モータ（駆動源）
50…緩衝液テーブル
52…緩衝液容器
58…取手
62…ケース
66…冷却素子（温度制御素子）
68…放熱器
100、140、142、144、146…分取・分注装置
102、264…ピペット
108…スプリング
110…チューブ
112、220、262…アーム
113…導体
119、120、130…ガイド
124、126…回転部材
128…連結具
132…運動具
101、141、143、145、147…洗浄槽

40

42

150…洗浄装置
 158…ポンプ
 160, 162…試料チャンバ
 164…フローセル(検出部)
 166…ノズル 167…供給口
 168…発光素子
 170…受光素子
 172, 174, 176, 178…レンズ
 180, 182…遮光板
 184…光電変換器
 186…増幅器
 188…A/D変換器
 190…解析手段
 192…温度変換手段
 194…出力装置
 200…ラック
 202…検体容器
 204…発送部
 206, 212, 214, 230…ラック移動装置

208, 222, 222a, 222b, 224, 224a, 224b, 232,
 236a, 236b…センサ
 210…ラック移送部
 213…ベルト
 216…ガイド
 218…ストッパ
 221…ゴム材
 234…回収部
 265…吸入口
 266…ネジ部
 268…凸部 267…切り欠き
 269…排出口
 270…洗浄部
 272…隙間
 274…ニップル(供給口)
 276, 278…保持具
 280…スプリング
 300…発振器
 302…フィルタ
 304…検波器

(43)

(44)

306…微分器
 308…比較器
 310…液面検知回路
 R…抵抗
 C…容量。

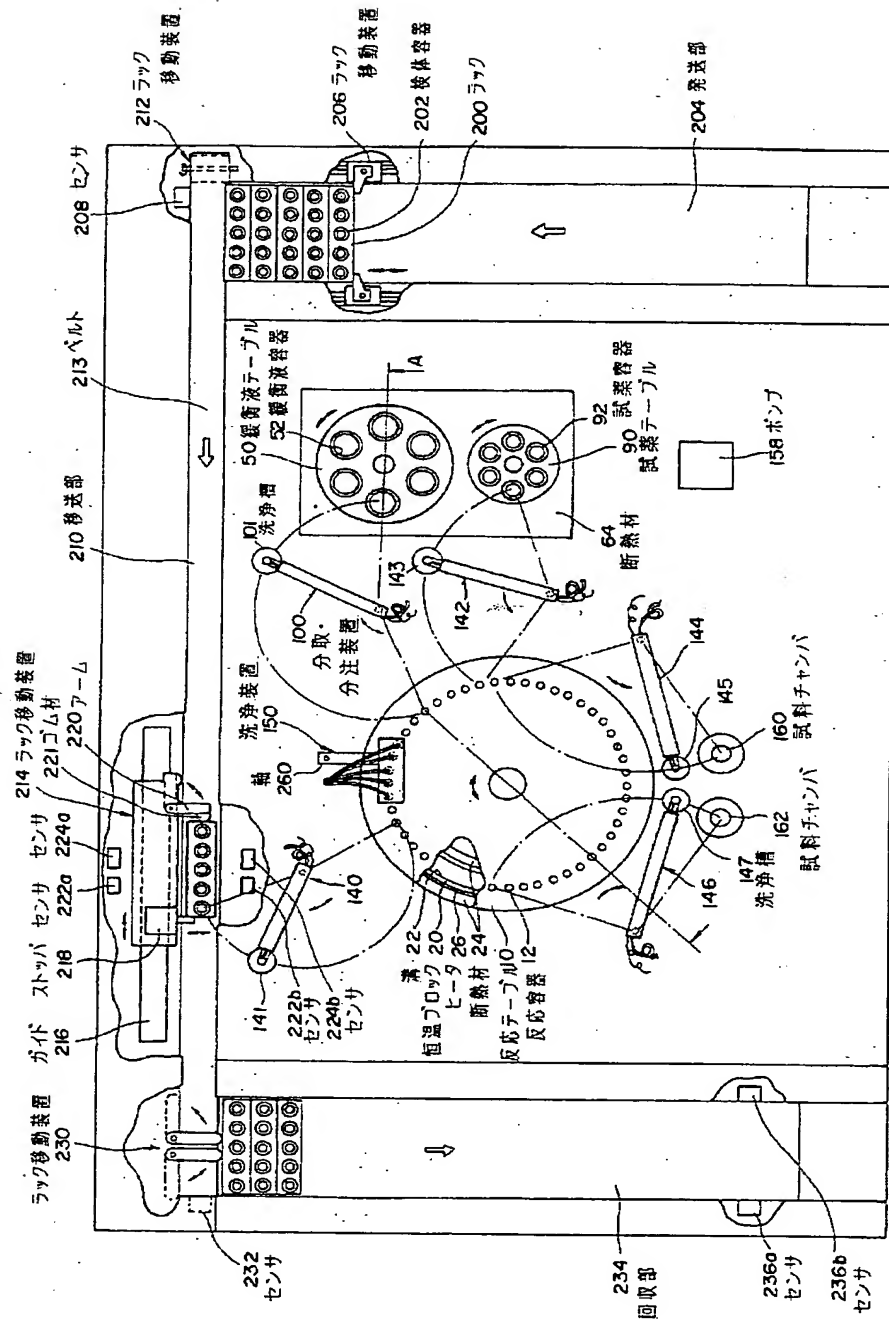
特許出願人 東亜医用電子株式会社

代理人 弁理士 湯 浅 恭

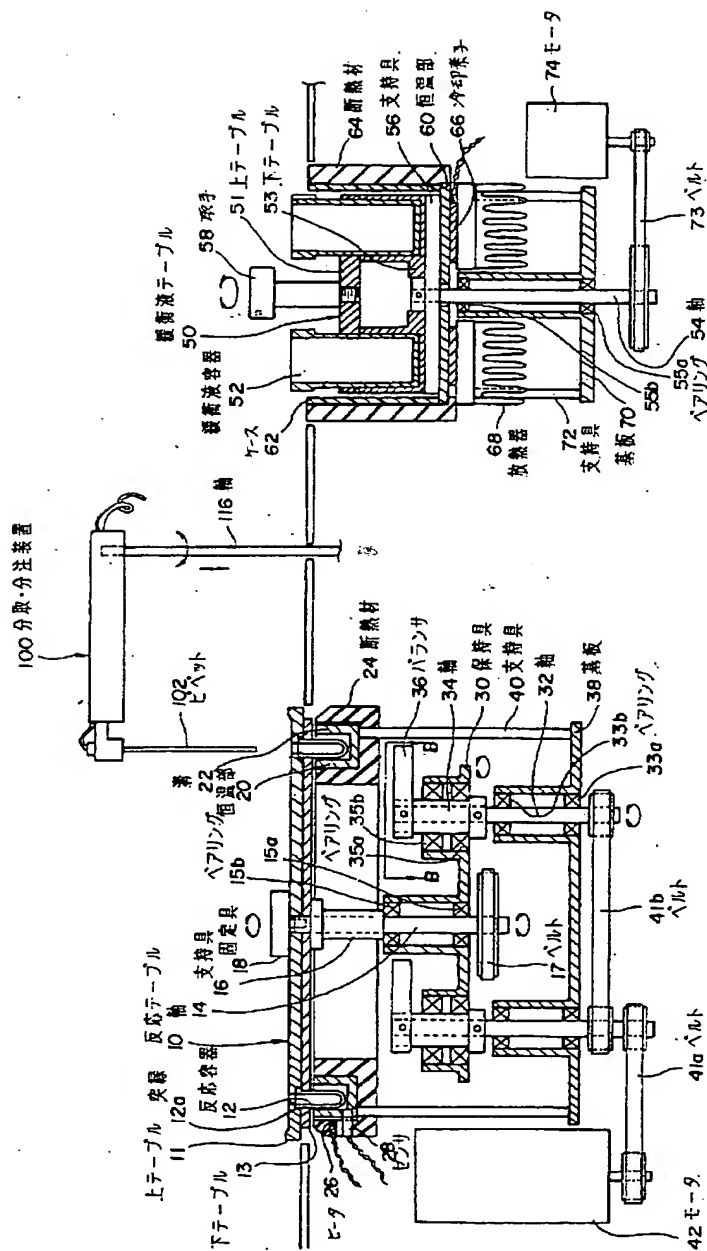


(外4名)

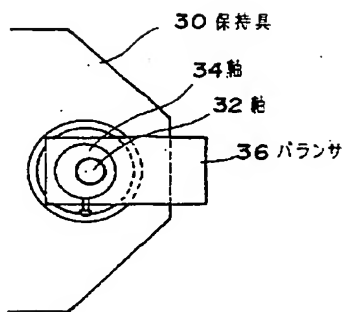
第 1 図



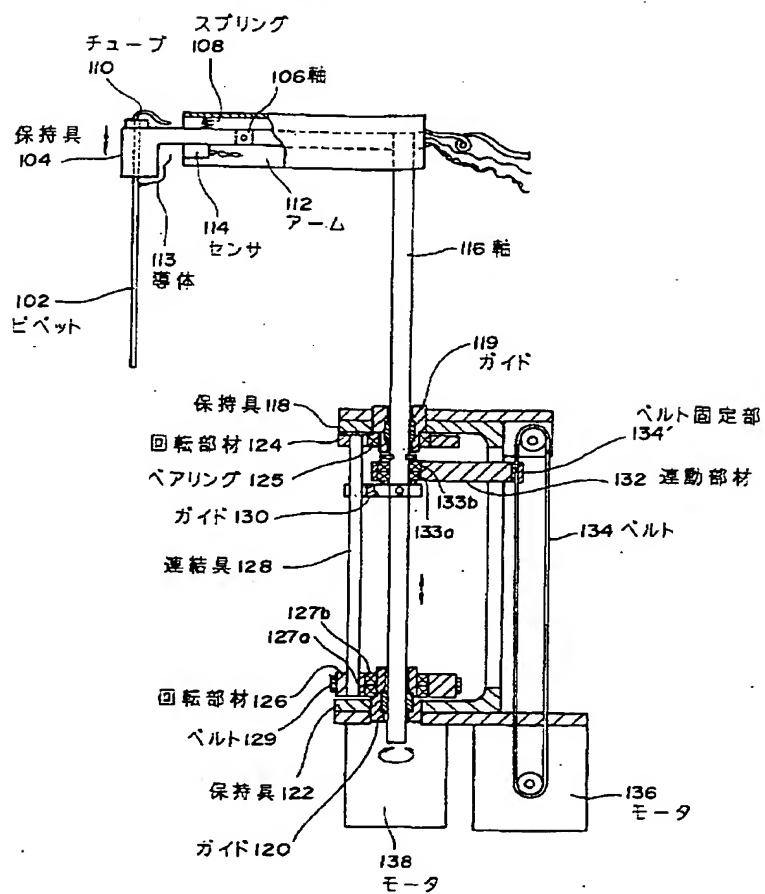
第 2 図



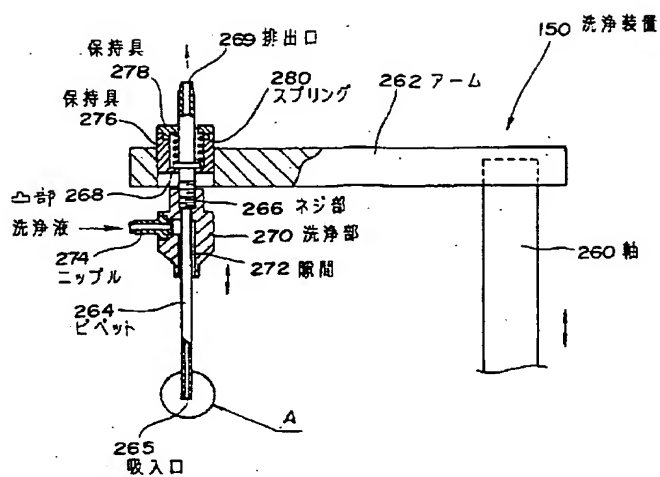
第2a図



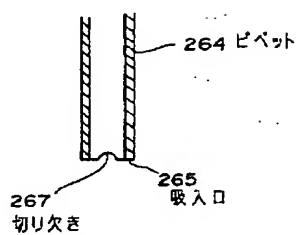
第3図



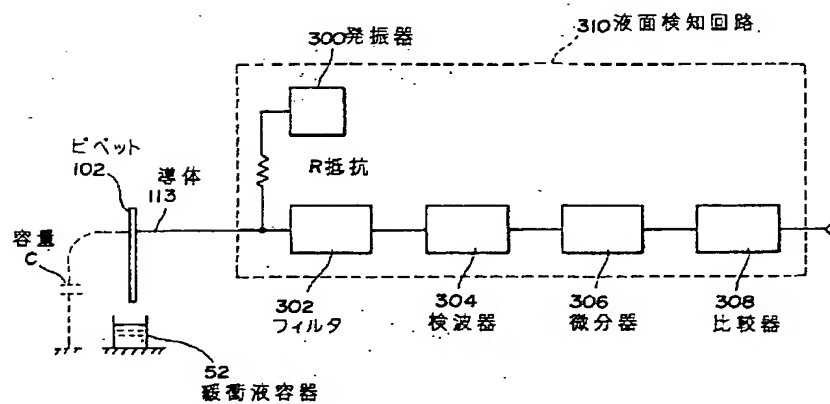
第 4 図



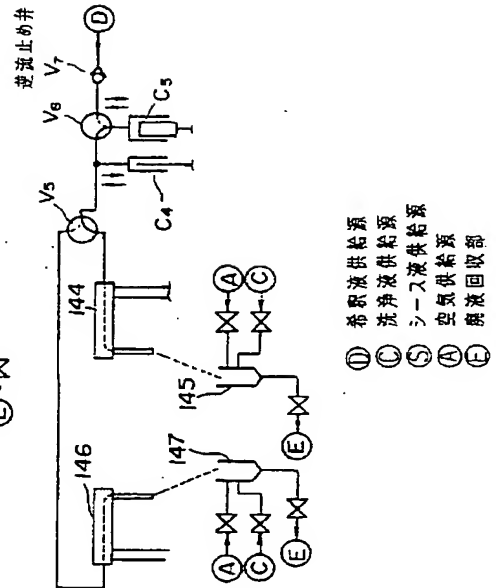
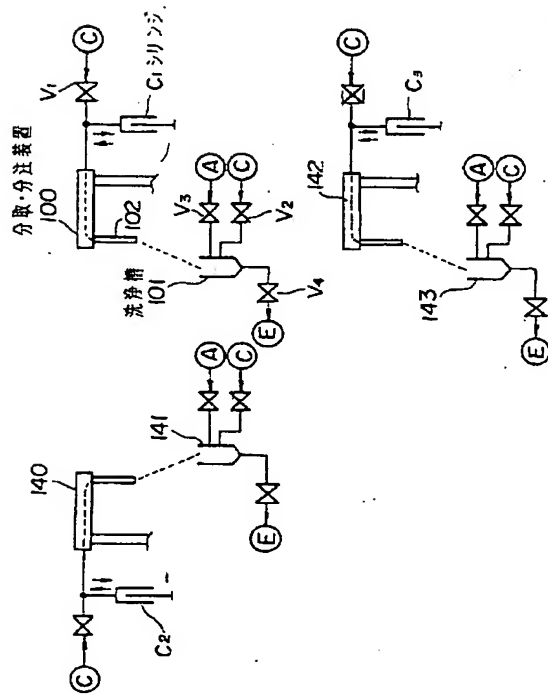
第 4a 図



第 5 図

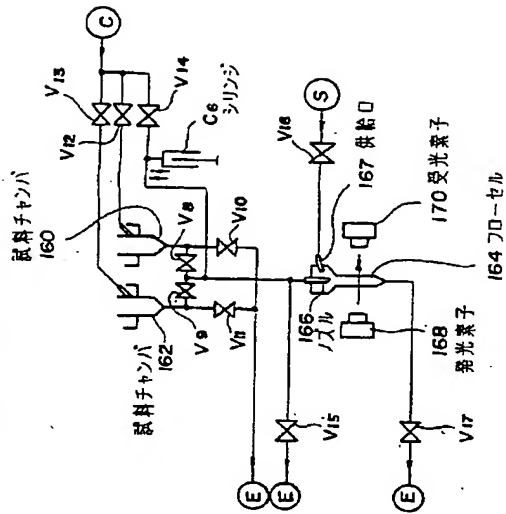


第 6 図

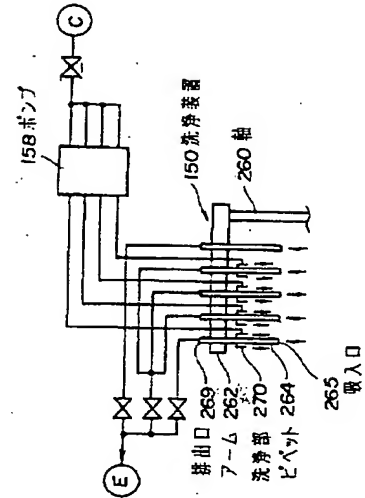


- ① 希釈液供給源
- ② 洗浄液供給源
- ③ シース液体供給源
- ④ 空気供給源
- ⑤ 廃液回収部

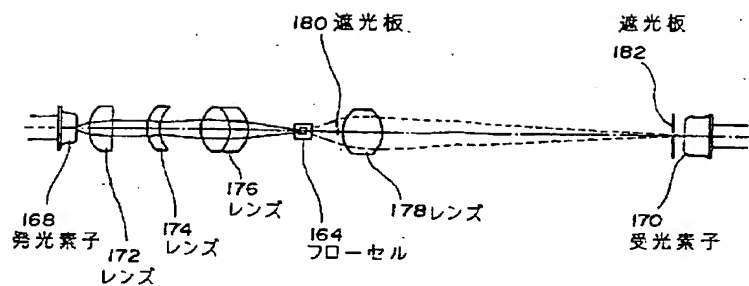
第 7 図



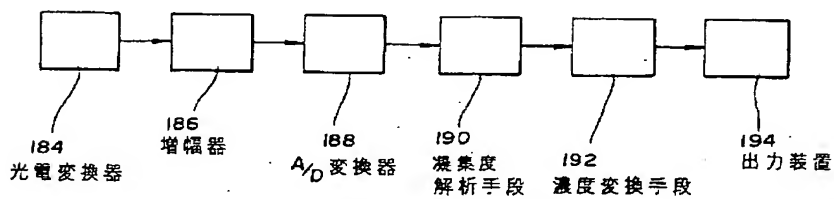
第 8 図



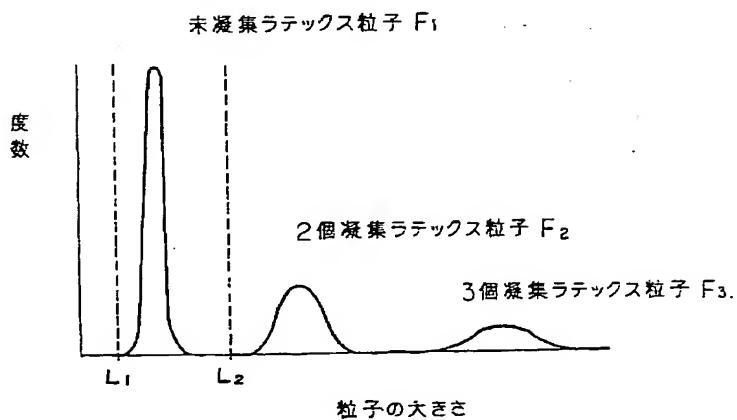
第 9 図



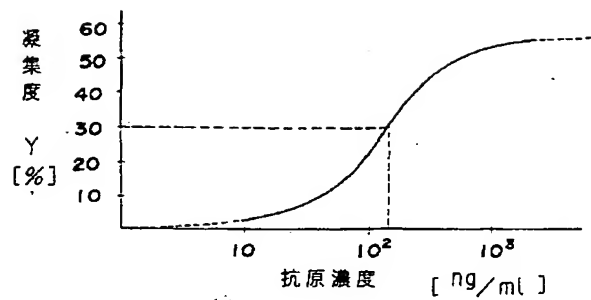
第 10 図



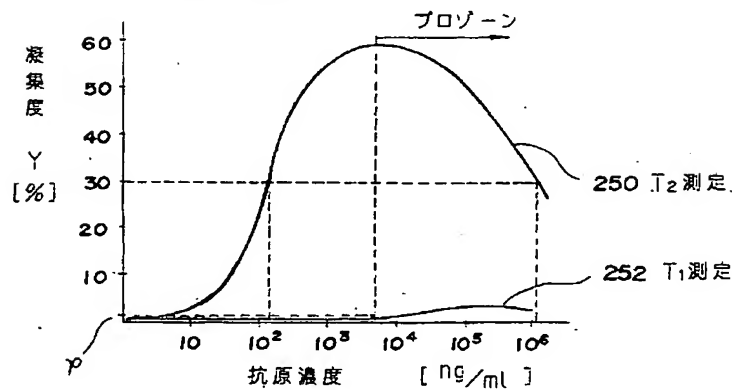
第 11 図



第12図



第13図



手続補正書

昭和63年11月14日

特許庁長官 吉田文毅 殿

1. 事件の表示

昭和63年特許願第 86916号

2. 発明の名称

免疫凝集測定装置

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所

名称 東亜医用電子株式会社

4. 代理人

住所 東京都千代田区大手町二丁目2番1号

氏名 (2770) 井聖士 湯浅恭

5. 補正の対象

明細書の「特許請求の範囲」と「発明の詳細な説明」の欄

6. 補正の内容

別紙の通り

1) 「特許請求の範囲」の記載を下記の如く補正する。

「1. 測定すべき抗原あるいは抗体を含む検体と、その抗原あるいは抗体と特異的に反応する抗体あるいは抗原を結合させた不溶性担体を含む試薬とを混合させることにより、抗原抗体反応が生じ、不溶性担体が検体中の抗原あるいは抗体を媒介として相互に凝集し、その凝集塊を検出部に導入することにより粒子の電氣的差異または光学的差異に基づく信号が発せられ、その信号を粒子計数手段により計測して不溶性担体の凝集度を数値化し変換することにより、検体に含まれている抗原あるいは抗体の量を測定する免疫凝集測定装置において、

複数の緩衝液容器が恒温状態を保ちながら装荷された正逆回転可能な緩衝液テーブルと、

複数の試薬容器が恒温状態を保ちながら装荷された正逆回転可能な試薬テーブルと、

複数の反応容器が恒温状態を保ちながら保持された正逆回転および振盪運動可能な反応テーブル

(1)。

方式
審査

と、

検体容器が装荷されたラックが移動する移送部と、

移送部に接続されラックを移送部に供給する発送部と、

移送部に接続されラックを移送部から回収する回収部と、

緩衝液容器から緩衝液を分取し反応容器に分注する装置と、

検体容器から検体を分取し反応容器に分注する装置と、

試薬容器から試薬を分取し反応容器に分注する装置と、

緩衝液、検体、試薬が混合され不溶性担体の凝集反応が生じた反応液を反応容器から分取し検出部に通ずる試料チャンバに分注する装置と、

反応容器に残留した反応液を排出し洗浄する装置と、

を包含することを特徴とした免疫凝集測定装置。

2. 反応テーブルに直交して取り付けられた軸

(2)

リングと、

保持具(104)に取り付けられたビベットと、

ビベットに接続されたシリンジと、

スプリングの力に逆って保持具(104)が回転移動させられた事を検知するセンサと、

軸(116)に対して回転可能に取り付けられた回転部材(124)、(126)と、

回転部材(124)、(126)を連結させる連結具と、

回転部材と連結する駆動源と、

軸(116)に取り付けられ連結具の動きを規制するガイド(130)と、

軸(116)の軸方向には軸(116)に固定され軸の回りには回転可能に取り付けられた連動具と、

連動具を軸(116)の軸方向に往復直線運動させる駆動源と、

からなり、

ビベットにより分取または分注が行われる容器の下に接地面を設け、ビベットが容器内の液面に接するときと接しないときのビベット、接地面間のインピーダンス変化を検知することにより、液

(4)

(14)と、

軸(14)が回転自在に支持された保持具と、

軸(14)と連結された駆動源と、

保持具に回転自在に支持された軸(34)と、

軸(34)に偏心して接続された軸(32)と、

軸(32)が回転自在に支持された基板と、

軸(32)と連結された駆動源(42)と、

反応容器を囲むように溝が設けられ温度制御可能な素子が密接して取り付けられた恒温槽と、

恒温部の周囲を覆うように設けられた断熱材とから構成されることにより、反応テーブルが反応容器を恒温状態に保ち正逆回転および振盪運動可能である請求項1記載の免疫凝集測定装置。

3. 分取・分注装置が、

保持具(118)、(122)に回転および摺動自在に支持された軸(116)と、

軸(116)に取り付けられたアームと、

アームに一端が回転可能に支持された保持具(104)と、

保持具(104)の回転移動に負荷を与えるスプ

(3)

面の検知を行う請求項1または2記載の免疫凝集測定装置。

4. 洗浄装置が、

軸方向に往復直線運動が可能な軸と、

軸の駆動源と、

その軸に取り付けられたアームと、

アームに取り付けられた保持具と、

保持具を挿通し移動可能に支持され先端に切り欠きが設けられたビベットと、

保持具内部においてビベットに設けられた凸部と保持具との間にはさまれるように設けられたスプリングと、

ビベット外周との間に隙間が形成されてビベットに取り付けられ、その隙間と通ずる供給口が設けられた洗浄部と、

からなる請求項1ないし3のいずれか一に記載の免疫凝集測定装置。』

2) 明細書の記載を下記の如く補正する。

頁	行	補正前	補正後
21	20	いるビ	いる。ビ

(5)

24	1	22 <i>sf</i>	222 <i>sf</i>
25	11	零	零
38	14	マクロ	ミクロ
38	14	B Z M	$\beta_2 - m$

(以上)

(6)